

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 17 NOV. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

Martine PLANCHE

BEST AVAILABLE COPY

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

cerfa
N° 11354*03

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE page 1/2

BR1

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 9 II / 210502

REMISE DES FICHES DATE 10 DEC 2003 LIEU 75 INPI PARIS 34 SP N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI 0314486 DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI 10 DEC. 2003		1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE BECKER ET ASSOCIES 35 rue des Mathurins 75008 PARIS	
Vos références pour ce dossier (facultatif) B0242FR2			
Confirmation d'un dépôt par télécopie		<input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie	
2 NATURE DE LA DEMANDE		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
Demande de brevet initiale		N° _____ Date _____	
ou demande de certificat d'utilité initiale		N° _____ Date _____	
Transformation d'une demande de brevet européen		<input type="checkbox"/>	
Demande de brevet initiale		N° _____ Date _____	
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Identification de marqueurs diagnostique pour les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles			
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)		<input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique	
Nom ou dénomination sociale		EXONHIT THERAPEUTICS SA	
Prénoms			
Forme juridique		Société anonyme	
N° SIREN		_____	
Code APE-NAF		_____	
Domicile ou siège		26 rue Brunel	
Rue			
Code postal et ville		75017 Paris	
Pays		France	
Nationalité		Française	
N° de téléphone (facultatif)		N° de télécopie (facultatif)	
Adresse électronique (facultatif)			
<input type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»			

Remplir impérativement la 2^{ème} page



BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE
page 2/2

BR2

REMISE DES FICHS DATE 10 DEC 2003 LIEU 75 INPI PARIS 34 SP 0314486 N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		Réservé à l'INPI DB 540 W / 210502
6 MANDATAIRE (s'il y a lieu) Nom BECKER Prénom Philippe Cabinet ou Société BECKER ET ASSOCIES N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel n°97-0800 Adresse Rue 35 rue des Mathurins Code postal et ville 75 010 Paris Pays N° de téléphone (facultatif) 01 53 43 85 00 N° de télécopie (facultatif) 01 53 43 85 05 Adresse électronique (facultatif) becker@becker.fr		
7 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)		
8 RAPPORT DE RECHERCHE Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation) Établissement immédiat ou établissement différé <input checked="" type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements) Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non		
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG		
10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS <input checked="" type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences Le support électronique de données est joint <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non Si vous avez utilisé l'imprimé « Suite », indiquez le nombre de pages jointes		
11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) BECKER Philippe n°97-0800		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI

Identification de marqueurs diagnostic pour les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles

- La présente demande concerne des marqueurs biologiques des encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles et leurs utilisations dans des méthodes de diagnostic. Elle concerne également des outils et/ou kits utilisables pour la mise en œuvre de ces méthodes (réactifs, sondes, amorces, anticorps, puces, cellules, etc.), leur préparation et leurs utilisations. L'invention est utilisable pour détecter la présence d'une infection chez les mammifères, y compris en phase précoce.
- Les maladies à prions, également appelées encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles ou maladies à agents transmissibles non conventionnels (ATNC) sont des maladies du système nerveux central rencontrées chez certains mammifères, dont l'homme.
- Les formes les plus connues de ces maladies sont la tremblante du mouton chez les ovins, l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB) chez les bovins, la maladie de Creutzfeld-Jakob (MCJ), le kuru et l'insomnie fatale familiale chez l'homme.
- L'agent infectieux n'est pas encore définitivement déterminé, mais l'hypothèse la plus acceptée est que ces maladies sont associées à l'accumulation dans le cerveau d'une protéine prion (PrP) de conformation anormale par rapport à la conformation observée chez les individus sains.
- La découverte d'une nouvelle variante de MCJ (vMCJ) après l'épidémie bovine de ESB en Angleterre confirme que ces maladies sont transmissibles et vraisemblablement peuvent franchir la barrière des espèces par le biais de l'alimentation. Leur évolution lente et fatale, est associée à des lésions qui affectent exclusivement le système nerveux central.
- Avec la découverte de vMCJ, des mesures d'urgences ont été mises en place pour évaluer l'ampleur de l'épidémie de l'ESB et pour protéger la santé publique. L'Union européenne impose désormais le test systématique de toute viande provenant de bovins abattus et âgés

de plus de 30 mois. Le temps d'incubation de l'ESB étant autour de cinq années, période durant laquelle l'infection peut se propager latéralement et verticalement, le développement d'un test diagnostic sur des animaux vivants revêt une importance vitale. Un test précoce offrirait un moyen sûr d'exclure les animaux infectés de la chaîne alimentaire. Le test utilisé aujourd'hui détecte uniquement de façon post mortem les animaux infectés à un stade tardif de la maladie.

Il y a un besoin urgent de mettre sur pied un test diagnostique capable de détecter des encéphalopathies à un stade précoce chez des animaux vivants et de façon rapide. Un tel test permettrait de suivre tous les animaux à risque en les testant de multiple fois au cours de leur vie.

La demande WO02/074986, appartenant au demandeur, décrit plusieurs marqueurs génétiques des encéphalopathies. Par une recherche extensive utilisant une approche innovante, différents marqueurs supplémentaires de l'ESB ont été identifiés et validés dans des expériences d'hybridation, permettant d'établir un test pré-symptomatique utilisable à partir du sang d'un mammifère vivant.

Les marqueurs identifiés ont été isolés par la technique DATAS (demande de brevet n° WO99/46403). DATAS identifie des différences qualitatives de l'expression de gènes et fournit une analyse systématique de l'ARN épissé entre deux conditions : sains/infecté. DATAS mène à l'identification de variants ARN fonctionnellement distincts. La technique DATAS comprend trois étapes distinctes: la collecte de tissu, l'isolement des ARNs et la construction d'un répertoire contenant des différences qualitatives et identifiant des nouveaux fragments de gènes, qui ne peuvent pas être isolés par d'autres techniques génétiques.

Par comparaison de l'expression qualitative des gènes dans les cellules sanguines de mammifères sains et infectés naturellement ou expérimentalement par l'ESB, différentes signatures de marqueurs génétiques ont été isolées. Les mammifères naturellement infectés étaient au stade final de la maladie, alors que les mammifères infectés par voie orale avec 1 g de cerveaux infectés par l'ESB, représentaient le stade précoce de la maladie.

La mise en œuvre de la méthodologie DATAS sur des cellules sanguines de vaches a permis l'identification et l'isolement de plusieurs milliers de marqueurs génétiques, répartis en deux répertoires représentatifs de l'expression qualitative des gènes entre des vaches saines et des vaches infectées naturellement d'une part, et entre des vaches saines et des vaches infectées expérimentalement d'autre part.

Les différents clones des deux expériences DATAS ont été déposés sur lames de verre. Les lames ont été hybridées avec des sondes produites à partir de matériel biologique de vaches infectées naturellement ou expérimentalement et de vaches saines utilisées comme contrôle. Au travers de deux types d'analyses statistiques, SAM (Significance Analysis of Microarray) et PAM (Prediction analysis of Microarray) comparant les animaux sains versus les animaux infectés, 15 clones ont été observés comme présentant une dérégulation dans les conditions sain versus infectés. Les 15 séquences d'acides nucléiques sont décrites ci-dessous comme SEQ ID NO:1-15.

La présente demande fournit ainsi un ensemble de marqueurs biologiques qui peuvent être utilisés, seuls ou en combinaison(s), pour détecter, caractériser ou suivre une encéphalopathie spongiforme transmissible chez un mammifère. L'invention est utile notamment pour détecter la présence de maladies à prion chez des sujets mammifères, notamment ovins, bovins ou humains. Elle est particulièrement avantageuse dans la mesure où elle peut être réalisée sur des mammifères vivants, à partir de fluides biologiques tels que le sang, plasma, plaquettes, etc.

Un objet de la présente demande concerne une méthode pour détecter la présence ou le risque de développer une encéphalopathie chez un mammifère, comprenant la détermination de la présence (ou de l'absence), dans un échantillon biologique du mammifère, d'une molécule cible choisie parmi:

- a) un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NOs: 1 à 15 ou un fragment de celles-ci ayant au moins 5, de préférence 6, 7, 8, 9 ou 10 bases consécutives,
- b) un acide nucléique ayant une séquence complémentaire d'une séquence selon a),

c) un analogue fonctionnel d'un acide nucléique selon a) ou b), ou

d) un polypeptide codé par un acide nucléique selon a) à c),

la présence (ou l'absence) d'une telle molécule cible dans l'échantillon étant une indication de la présence ou du risque de développer une encéphalopathie chez ce mammifère.

5

Dans une variante particulière de mise en œuvre, la méthode comprend la détermination (simultanée) de la présence ou absence d'au moins, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou plus des molécules cibles telles que définies ci-dessus.

- 10 La molécule cible peut être la séquence complète du gène ou de l'ARN ou de la protéine correspondant aux séquences SEQ ID NOs: 1-15, ou un fragment de celles-ci, par exemple comportant un domaine de variabilité (épissage, délétion, polymorphisme, etc.). Un analogue fonctionnel désigne plus particulièrement un analogue provenant d'une autre espèce (par exemple homme, mouton, etc.), ou un variant naturel résultant par exemple de
- 15 polymorphisme, épissage, etc.

- Dans un mode de réalisation particulier, la méthode comprend la détermination de la présence d'au moins un acide nucléique selon a) à c). Différentes techniques utilisables pour détecter une espèce d'acide nucléique dans un échantillon sont utilisables dans la
- 20 présente invention, comme par exemple le Northern Blot, l'hybridation sélective, l'utilisation de supports revêtus d'oligonucléotides sondes, l'amplification d'acide nucléique comme par exemple par RT-PCR, PCR quantitative et ligation-PCR, etc. Ces méthodes peuvent comprendre l'utilisation d'une sonde nucléique (par exemple un oligonucléotide) capable de détecter sélectivement ou spécifiquement l'acide nucléique cible dans
- 25 l'échantillon. L'amplification peut être réalisée selon différentes méthodes connues en soi de l'homme du métier, telles que la PCR, la LCR, l'amplification médiée par transcription (TMA), l'amplification par déplacement de brin (SDA), NASBA, l'emploi d'oligonucléotides spécifiques d'allèles (ASO), l'amplification spécifique d'allèle, le Southern blot, l'analyse conformationnelle SSCA, l'hybridation in situ (e.g., FISH), la
- 30 migration sur gel, l'analyse d'hétéroduplexes, etc.

Selon un mode préféré de mise en oeuvre, la méthode comprend la détection de la présence ou de l'absence d'un acide nucléique selon a) à c) par hybridation sélective ou amplification sélective.

- 5 L'hybridation sélective est typiquement réalisée en utilisant des sondes nucléiques, de préférence immobilisées sur un support, tel qu'un support solide ou semi-solide présentant au moins une surface, plane ou non, permettant l'immobilisation de sondes nucléiques. De tels supports sont par exemple une lame, bille, membrane, filtre, colonne, plaque, etc. Ils peuvent être réalisés en tout matériau compatible, comme notamment du verre, silice,
- 10 plastique, fibre, métal, polymère, etc. Les sondes nucléiques peuvent être tout acide nucléique (ADN, ARN, PNA, etc.), de préférence simple-brin, comprenant une séquence spécifique d'une molécule cible telle que définie en a) à c) ci-dessus. Les sondes comprennent typiquement de 5 à 400 bases, de préférence de 8 à 200, plus préférentiellement moins de 100. Les sondes peuvent être des oligonucléotides
- 15 synthétiques, produits sur la base des séquences de molécules cibles de l'invention selon des techniques de synthèse classique. Les sondes peuvent également être synthétisées directement in situ, sur le support, selon des méthodes connues en soi de l'homme du métier. Les sondes peuvent également être fabriquées par des techniques génétiques, par exemple par amplification, recombinaison, ligation, etc. Une telle sonde constitue un autre
- 20 objet de la présente demande, ainsi que son utilisation (essentiellement in vitro) pour la détection d'une encéphalopathie chez un sujet. De manière particulièrement préférée, on utilise un ensemble de sondes nucléiques comprenant tout ou un fragment de 5 bases consécutives au moins de chacune des séquences SEQ ID NO : 1-15, ou d'un brin complémentaire de celles-ci, avantageusement immobilisées sur un support.

25

- L'hybridation peut être réalisée dans des conditions classiques, connues de l'homme du métier et ajustables par celui-ci (Sambrook et al). En particulier, l'hybridation peut être réalisée dans des conditions de stringence élevée, moyenne ou faible, selon le niveau de sensibilité recherché, la quantité de matériel disponible, etc. Par exemple, des conditions
- 30 appropriées d'hybridation incluent une température comprise entre 62 et 67°C pendant 2 à 18 heures. Après l'hybridation, différents lavages peuvent être réalisés pour éliminer les

molécules non-hybridées, typiquement dans des tampons SSC comprenant du SDS, tels que un tampon comprenant 0,1 à 10 X SSC et 0,1% SDS.

Dans un mode de mise en oeuvre typique, les acides nucléiques (ou les puces ou supports) sont pré-hybridés dans un tampon d'hybridation (Rapid Hybrid Buffer, Amersham) contenant typiquement 100 µg/ml d'ADN de sperme de saumon à 65°C pendant 30 min. Les acides nucléiques de l'échantillon sont ensuite mis en contact avec les sondes (typiquement appliqués sur le support ou la puce) à 65°C pendant 2 à 18 heures. De préférence, les acides nucléique de l'échantillon sont marqués au préalable, par tout marquage connu (radioactif, enzymatique, fluorescent, luminescent, etc.). Les supports sont ensuite lavés dans un tampon 5X SSC, 0,1% SDS à 65°C pendant 30 min, puis dans un tampon 0.2X SSC, 0,1% SDS. Le profil d'hybridation est analysé selon des techniques classiques, comme par exemple en mesurant le marquage sur le support au moyen d'un instrument adapté (par exemple InstantImager, Packard Instruments). Les conditions de l'hybridation peuvent naturellement être ajustées par l'homme du métier, par exemple en modifiant la température d'hybridation et/ou la concentration saline du tampon.

L'amplification sélective est de préférence réalisée en utilisant une amorce ou une paire d'amorces permettant l'amplification de tout ou partie d'un des acides nucléiques cibles dans l'échantillon, lorsque celui-ci y est présent. L'amorce peut être spécifique d'une séquence cible selon SEQ ID NO : 1-15, ou d'une région flanquant la séquence cible dans un acide nucléique de l'échantillon. L'amorce comprend typiquement un acide nucléique simple-brin, d'une longueur comprise avantageusement entre 5 et 50 bases, de préférence entre 5 et 30. Une telle amorce constitue un autre objet de la présente demande, ainsi que son utilisation (essentiellement in vitro) pour la détection d'une encéphalopathie chez un sujet.

Dans un autre mode de réalisation, la méthode comprend la détermination de la présence d'un polypeptide selon d). La mise en évidence d'un polypeptide dans un échantillon peut être réalisée par toute technique connue en soi, comme notamment au moyen d'un ligand spécifique, par exemple un anticorps ou un fragment ou dérivé d'anticorps. De préférence, le ligand est un anticorps spécifique du polypeptide, ou un fragment d'un tel anticorps (par

exemple un Fab, Fab', CDR, etc.), ou un dérivé d'un tel anticorps (par exemple un anticorps simple-chaîne, ScFv). Le ligand est typiquement immobilisé sur un support, tel qu'une lame, bille, colonne, plaque, etc. La présence du polypeptide cible dans l'échantillon peut être détectée par mise en évidence d'un complexe entre la cible et le ligand, par exemple en utilisant un ligand marqué, en utilisant un deuxième ligand de révélation marqué, etc. Des techniques immunologiques utilisables et bien connues sont les techniques ELISA, RIA, etc.

Des anticorps spécifiques des polypeptides cibles peuvent être produits par des techniques conventionnelles, notamment par immunisation d'un animal non-humain avec un immunogène comprenant le polypeptide (ou un fragment immunogène de celui-ci), et récupération des anticorps (polyclonaux) ou des cellules productrices (pour produire des monoclonaux). Des techniques de production d'anticorps poly- ou monoclonaux, de fragments ScFv, d'anticorps humains ou humanisés sont décrites par exemple dans Harlow et al., *Antibodies: A laboratory Manual*, CSH Press, 1988 ; Ward et al., *Nature* 341 (1989) 544 ; Bird et al., *Science* 242 (1988) 423 ; WO94/02602 ; US5,223,409 ; US5,877,293 ; WO93/01288. L'immunogène peut être fabriqué par synthèse, ou par expression, dans un hôte approprié, d'un acide nucléique cible tel que défini ci-avant. Un tel anticorps, monoclonal ou polyclonal, ainsi que ses dérivés ayant la même spécificité antigénique, constituent également un objet de la présente demande, de même que leur utilisation pour détecter une encéphalopathie.

La méthode de l'invention est applicable à tout échantillon biologique du mammifère testé, en particulier tout échantillon comportant des acides nucléiques ou des polypeptides. On peut citer avantageusement un échantillon de sang, plasma, plaquette, salive, urine, selles, etc., plus généralement tout tissu, organe ou, avantageusement, fluide biologique comportant des acides nucléiques ou des polypeptides. Dans un mode de mise en oeuvre préféré, l'échantillon est un échantillon de sang ou plasma. L'échantillon peut par ailleurs être pré-traité pour faciliter l'accessibilité des molécules cibles, par exemple par lyse (mécanique, chimique, enzymatique, etc.), purification, centrifugation, séparation, etc. L'échantillon peut également être marqué, pour faciliter la détermination de la présence

des molécules cibles (marquage fluorescent, radioactif, luminescent, chimique, enzymatique, etc.).

- 5 L'invention est applicable à tout mammifère, de préférence choisi parmi les bovins, ovins et humains. La méthode de l'invention est particulièrement utile pour la détection de la tremblante du mouton chez les ovins, de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB) chez les bovins, et de la maladie de Creutzfeld-Jakob (MCJ), le kuru et l'insomnie fatale familiale chez l'homme.
- 10 Un objet particulier de la présente demande concerne une méthode pour détecter la présence ou le risque de développer une ESB chez un bovin, comprenant la détermination de la présence (ou de l'absence), dans un échantillon biologique du bovin, d'une ou plusieurs molécules cibles choisies parmi:
- 15 a) un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15 ou un fragment de celles-ci ayant au moins 5, de préférence 6, 7, 8, 9 ou 10 bases consécutives,
 - b) un acide nucléique ayant une séquence complémentaire d'une séquence selon a),
 - c) un polypeptide codé par un acide nucléique selon a) ou b).
- 20 Un autre objet particulier de la présente demande concerne une méthode pour détecter la présence ou le risque de développer une ESB chez un bovin ou un ovin, comprenant la mise en contact d'un échantillon biologique du bovin ou ovin contenant des acides nucléiques avec un produit comprenant un support sur lequel est immobilisé au moins un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment
- 25 de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci, et la détermination du profil d'hybridation, le profil indiquant la présence ou le risque de développer une ESB chez le bovin ou ovin. De préférence, le produit comprend au moins 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 acides nucléiques différents choisis parmi les acides nucléiques mentionnés ci-dessus. Dans un mode
- 30 particulier de mise en oeuvre, le produit comprend chacun des acides nucléiques de séquence SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci.

Un autre objet de la présente demande concerne un produit comprenant un support sur lequel est immobilisé au moins un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, un
 5 acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci ou un analogue fonctionnel de celles-ci. De préférence, le produit comprend au moins 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 acides nucléiques différents choisis parmi les acides nucléiques mentionnés ci-dessus. Dans un mode particulier de mise en oeuvre, le produit comprend chacun des acides nucléiques de séquence SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5
 10 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci

Un autre objet de la présente demande concerne un produit comprenant un support sur lequel est immobilisé au moins un polypeptide codé par un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins
 15 15 bases consécutives, un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci ou un analogue fonctionnel de celles-ci. De préférence, le produit comprend au moins 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 polypeptides différents choisis parmi les polypeptides mentionnés ci-dessus.

20 Le support peut être tout support solide ou semi-solide présentant au moins une surface, plane ou non, permettant l'immobilisation d'acides nucléiques ou de polypeptides. De tels supports sont par exemple une lame, bille, membrane, filtre, colonne, plaque, etc. Ils peuvent être réalisés en tout matériau compatible, comme notamment du verre, silice, plastique, fibre, métal, polymère, polystyrène, téflon, etc. Les réactifs peuvent être
 25 immobilisés sur la surface du support par des techniques connues, ou, dans le cas des acides nucléiques, synthétisés directement in situ sur le support. Des techniques d'immobilisation incluent l'adsorption passive (Inouye et al., J. Clin. Microbiol. 28 (1990) 1469), la liaison covalente. Des techniques sont décrites par exemple dans WO90/03382, WO99/46403). Les réactifs immobilisés sur le support peuvent être ordonnés selon un
 30 schéma pré-établi, pour faciliter la détection et l'identification des complexes formés, et selon une densité variable et adaptable.

Dans un mode de mise en oeuvre, le produit de l'invention comprend un pluralité d'oligonucléotides synthétiques, d'une longueur comprise entre 5 et 100 bases, spécifiques d'un ou plusieurs acides nucléiques cibles définis en a) à c).

- 5 Les produits de l'invention comprennent typiquement des molécules contrôle, permettant d'étalonner et/ou normaliser les résultats.

Un autre objet de la présente demande concerne un kit comprenant un compartiment ou conteneur comprenant moins un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi
10 SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci ou un analogue fonctionnel de celles-ci. De préférence, le produit comprend au moins 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 acides nucléiques différents choisis parmi les acides nucléiques mentionnés ci-dessus. Dans un mode particulier de mise en oeuvre, le produit comprend chacun des acides
15 nucléiques de séquence SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci. Le kit peut comprendre par ailleurs des réactifs pour une réaction d'hybridation ou immunologique, ainsi que, le cas échéant, des contrôles et/ou instructions.

- 20 Un autre objet de l'invention concerne l'utilisation d'un produit ou kit tel que défini ci-dessus pour la détection d'une encéphalopathie chez un sujet mammifère.

Un autre objet de l'invention concerne un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO : 1-15, ou un fragment de celles-ci comprenant au moins 5 bases
25 consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci, ou un analogue fonctionnel de celles-ci, en particulier un analogue provenant d'une autre espèce. L'invention concerne également un vecteur de clonage ou d'expression comportant ces acides nucléiques, ainsi que toute cellule recombinante comprenant un tel vecteur ou acide nucléique.

30

Un autre objet de l'invention concerne l'utilisation d'un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO : 1-15, ou un fragment de celles-ci comprenant au

moins 5 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci, ou un analogue fonctionnel de celles-ci, en particulier un analogue provenant d'une autre espèce, pour la détection (essentiellement in vitro) d'une encéphalopathie chez un sujet mammifère.

5

Selon un exemple particulier de mise en œuvre de l'invention, on prélève un échantillon de sang d'un mammifère à tester. L'échantillon de sang est traité de manière à rendre les acides nucléiques plus accessibles, et ceux-ci sont marqués. Les aides nucléiques sont ensuite appliqués sur un produit tel que défini ci-avant et le profil d'hybridation est déterminé, permettant de diagnostiquer la présence ou non d'une encéphalopathie chez le

10

sujet. La méthode de l'invention est simple, pratiquée ex vivo, sur des animaux vivants, et permet la détection précoce d'une maladie à prion.

LISTE DE SEQUENCES

SEQ ID NO : 1 – EXB-NROA0576 : Homologie avec NM_003576 : Homo sapiens serine/threonine kinase 24 (STE20 homolog, yeast) (STK24), mRNA. 4/2003

5
1 GGTGTGGAGG TGTTCAAAGG CATTGACAAT CGGACTCAGA AAGTAGTCGC
51 CATAAAAATC ATTGACCTGG AGGAGGCAGA AGATGAGATC GAGGACATTG
10 101 AGCAGGAAAT CACAGTGCTG AGTCAGTGTG ACAGTCCCTA CGTAACCAAA
151 TATTACGGAT CCTACCTGAA GGACACTAAA TTGTGGATAA T

15 SEQ ID NO :2 - Cluster NROA_c584_1 : Homologie avec CB424646 : 598918 MARC 6BOV Bos taurus cDNA 3', mRNA sequence. 3/2003

1 TATCTGCAGA ATTTCCCTT GAGAAGCGTT ATGGGGTGCA GGTAAGTTAT
20 51 TACACAAGAG AAAGAAGTTT TCTTACTAAC AGCAAGATTA ATGGCACAAAT
101 TCAACCAAAA CTCATATACA TTTTACTGCT TAATTTACAT ATTATTTTGG
25 151 TGGAAAAAAT AGTATTCTTT ATTCTTTCAG TTTCTTTATG CAAAAATACA
201 CTTCTACAGG GACATCACTT AGATGTTATG CAAACCTCCC CCCC

30 SEQ ID NO : 3 – EXB-NROA1108 : Homologie avec NM_138402 : Homo sapiens hypothetical protein BC004921 (LOC93349), mRNA. 4/2003

1 GAGACATTTG GCCAAAAGAG GAATTTCCAG GACACCAACA ACATCCATTA
35 51 TTCCATTATT CATTTGTTTC CTGAAGAGCA AACACTTCCT TGAAATTCTT
101 CTCAAATTCT GCCTCCAGTC TAAGCCCCAT TTGGCCAAAA TCATTGAACT
151 TGAAAGATGC CCTGTGGTTC TGAAAGATGA GACGCATGTC CCACACAAAC
40 201 CCTTCCACAT TGGAGTAGCC CTGCTCATTC AGCCTCTTCT TGATCTTGTC
251 CAGCCACATG GGCTCCTTGA GGTTTTTAGA AGCCTCTTTC ATATAATAAT
45 301 AATAGGGAAT CCTCACTATA ACGCT

SEQ ID NO: 4 - Cluster NROA_c450_1 : Pas d'homologie

50 1 AAGCGTTATG CAGGTAGGCC GACAAGGCGA AGTGGGATGC CGGAGAGCGG
51 CCGAGTTATT GCTCCGAGGA GACCACGTTT ACCGTTACT ATGGCGACCG
101 CCCCATCCCG GATCACTATC AGCCGTTTAC CGCCGATGAG GCGACGTGGT
55 151 TCCAGCTCTG GGAGACGGTG AGCGAGGGCA CTCCTACGTC GCCGCCCTTC

201 GCGACGATTG AGGAACTGGC AGCCTACCTC GCCGAGTGGG GCGACTTCTG
 251 TGATCACAGG CGCGCCGTCG AGTCCATGGA CGCGCGCGAG ATTGAGCGCC
 5 301 TCCTGACGCT GAATGACCGG CACTAGTTCA AGGTGCGGCT GGGGGCAGCA
 351 GCGCGCCTAA GCTTTCTGCA AGACTGGCTG GGCGCCCAGC ATGATGGTCC
 401 GCGGCGGCGA GATCCTGACC AACCCTGGGG ACATGGTGTC GTCGTGACCC
 10 451 TCGCCTAGCT CTCTCACACA CCTAGGAGGA AGAGATGACC ACCCCCAACA
 501 TTCGCGGCCA CGAGACCGAA GCCAAGGCCC GCAAGGCGGC GATGAAGTGG
 15 551 TTCACCTTCA CGGACGGCAC CAAGCCTGTC GAGGGCGTCC ACTTCCACAT
 601 CAAGCAGAAC CACTTCGGGC TCTGGACCTT CCGGGAGGGC CCGGCTCCGA
 651 AGTCCGCCGG ACCCCGCATC ACTCATAACG CTTCTCAA
 20

SEQ ID NO: 5 – EXB-NROB1323 : Homologie avec NM_000982 : Homo sapiens ribosomal protein L21 (RPL21), mRNA. 5/2003

25 1 AGAAGCGTTA TTGCTGATAC CCGCTACATG TTCTCCAGGC CTTTCAGAAA
 51 ACATGGAGTT GTTCCTTTGG CCACATACAT GCGAATCTAC AGGAAGGGTG
 101 ATATTGTAGA TATCAAGGGA ATGGGTACTG TTCAAAAAGG AATGCCCCAC
 30 151 AAATGTTACC ATGGCAAAAC TGGAAGAGTC TATAATGTCA CCCAGCATGC
 201 TGTTGGCATC ATTGTAACA AACAAGTTAA GGGCAAGATT CTTGCCAAGA
 35 251 GAATTAATGT GCGTATCGAG CATATTAAGC ACTCTAAGAG CCGAGATAGC
 301 TTCCTGAAAC GTGTGAAGGA AAATGATCAG AAAAAGAGGG AAGCCAAAGA
 351 GAAAGGGACT TGGGGTTAAC ACC
 40

SEQ ID NO :6 – EXB-NROA0588 : Homologie avec AW325879 : 17199 MARC 1BOV Bos taurus cDNA 5', mRNA sequence. 4/2001

45 1 GGGCGGAGGT CACCCTGGGG ATCCTCCAGG GCCAGGCCCT GGCACAACCTC
 51 GTCTCCATCA CACAGATGGG CCGTCGCCTG GTCGTGGCTC TCAGGAGTCA
 101 GACCGGAAAA AGCCAGCCCT GGGGCAACCA GGAGCACCGA GGTGATGAGC
 50 151 AGGACAGCCC AGGAGGTCAT GTTGAGGCAG CTGAAAGGTC TGTGCAAGTC
 201 AATCATGAAG AAATTTCTCC GTACCATCAC CTCCC

55

SEQ ID NO :7 – EXB-NROB1540 : Homologie avec D37952 : Bovine NB10 mRNA for MHC class II (BoLA-DQB), partial cds. 2/1999

1 CTTGTGTAGG CAGAGGTTCC AGGGTCAGTG GAGGAAGCAG CATCACAGCC
 5 51 AGATCCATGG TTGGGGGATG GCCACGGGAA ATGACTTGGT GACTGACTCT
 101 GATCTCAGAG TGGGACAGGC TGACAGGCAT CTGGGAATTC CGGGCAAGGT
 151 CAGGCACGTA TTATAGAAGA GCAAACACCA ATCCCAAAAT ATCCTCAGGA
 10 201 ATCAGCGCAT GAGCCCCTTC TGGCTCCTGT GATGGATGAT GAGGCCCAGC
 251 CCAAGGAAGA TCAGCCCCAG CACAAAGCCT CCAAC

15 SEQ ID NO : 8 Cluster NROB_c1_-64 : Homologie avec D76416 : Bovine mRNA for MHC class II DM alpha-chain (BoLA-DMA), complete cds. 2/1999

1 TCTGCAGAAT TCGCCTCTGA GAAGCGTTAT CCGTTGGACC CAANNNNNNN
 20 51 NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNCAAGA GAAAAGATCA
 101 GAGGGTGCTG GTGTGACGTT TAAGTAGGAA AAGGCCTGGA AGGTGAGTCC
 151 ATCAACCGCG GAGACAAAAG TGGGCCCGGC TCCTTCCACA GGTGCCGACT
 25 201 GATGCTGCCA GTTCACGGTC AGTGTGGGTC AACAC

30 SEQ ID NO : 9 – EXB-NROB1371 : Homologie avec NM_006098 : Homo sapiens guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 2-like 1 (GNB2L1), mRNA. 4/2003

1 AAGCGTTATT TAGATAANNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN
 35 51 NNNNNNNNTAC ACCCAGAGTA TTCCATAGTT TGATGGTTTT GTCTCGGGAG
 101 CCAGAGACAA TTTGCCGGTT GTCAGAAGAG AAGGCCACAC TCAGCACATC
 151 TTTGGTATGG CCTACAAATC GGCGAGTGGT GGTGCCCGTT GTGAGATCCC
 40 201 AAAGGCGAAG GGTTCATCC CAGGAGCCTG AGAGGGCAAA TTGGCCATCT
 251 GAGGAAATGA CCACATCACT AACAAAGTGG GAGTGACCCC GAAGAGCACG
 45 301 CTGTGGGATA CCATAGTTGG TTTCATCTCT GGTGAGCTTC CACATAATGA
 351 TGGTCTTATC TCGAGAGGCG GACGATATCA TGTCCGGGAA CTGGGGAGTG

50 SEQ ID NO :10 - NROB_c579_1 : Homologie avec D87076 : Homo sapiens mRNA for KIAA0239 gene, partial cds. 1/2003

1 GGGCCAGGGG ATGATATGAA TGTCACAGGA GGAGACACCT TCTGTCTTTG
 55 51 TTTCAAAGAA AGTTGATGTG CCATTTGTTA ATATACAAGA GAAATATTGA

101 AAATATATTG AAAAGAGCAA TTTTAAATTA TTTTGGCTT ATGTTGCAAT
 151 ATTTATTTTC TTGTATTAGG AAAGATTCCT TTGTAGAAAA AAAATGTATT
 5 201 TTTCATTAAAC GCAAAAACCT ATTTCTCCTT TTTGTACATT GTCCATGTTC
 251 GCTACCCTTA ACGAGCAATA GAATGTATGG CTGCCTCGGG GTGGCCGGTG
 301 CCCGCGTGCC CTGCATGATT CTGTGGTCCC ACCACCATGT AGCTCCCAGT
 10 351 CCCATCCTGT CCTGCTCACT CATGGGGGTT TCCAGAGCCT AGCCCCCT

15 SEQ ID NO : 11 – Cluster NROA_c125_1 : Homologie avec D45359 : Bos taurus mRNA
 for MHC class II DRB3, partial cds. 1/2003

1 TGGATTGCAG GTGACTGAGA AAACCATCGA GGACAGTTTT TAAGGGGTCA
 51 CTGAGCCAGG AGCAAATGAG ATCCTGAGAA AGTACTTCAT TGTGGAAGAG
 20 101 TTAGCACTAA GCAGGAAACC TTTCCATGCT GTGAAGAAGC TGGGACAGAA
 151 GGTTCCTCCT TGAGTGTGAC CATCTTCACT TCAGCTCAGG AGCCCTGTTG
 25 201 GCTGAAGTGT AGGGCGTCCT TTCTGATTCC TGAAGTATAT TTATTAGCCC
 251 CACGGCAAGG AAGAACAGAC TCAGAACGAA GCCCCCGACT CCACTCATCA
 301 TCTTGCTCTG AGCAGAGTCA GACCGTGCCC TCCATTCTAC TGTGATAGGG
 30 351 CTTGTCTGGC TGGGGTGCTC CACTTGCGAA GTGTAGACCT GGCACCA

35 SEQ ID NO : 12 – Cluster NROB_c0_1 : Homologie avec J01394 : Bos taurus
 mitochondrion, complete genome. 4/2001

1 GCTGTCCAAA AAGGCCTCCG TTATGGAATA ATTCTTTTTA TTATCTCCGA
 51 AGTACTATTG TTTACCGGAT TTTTCTGAGC TTTCTACCAC TCAAGCCTCG
 40 101 CCCCCACCCC TGGGGGAGGC GGCTGCTGAC CCCCACAGG CATTACCCCA
 151 CTAAACCCCC TAGAAGTCCC ACTGCTCAAC ACCTCTGTCC TATTGGCTTC
 45 201 CGGAGTTTCT ATTACCTGAG CCCATCATAG TTTAATAGAA GGGGACCGAA
 251 AGCATATATT ACAAGCCCTA TTTATCACCA TCACATTAGG AGTCTACTTC
 301 ACACTACTAC AAGCCTCAGA ATACTATGAA GCACCTTTTA CTATCTCCGA
 50 351 CGGAGTTTAC GGCTCAACTT TTTTGTAGC CACAGGCTTC CACGGCCTCC
 401 ACGTCATCAT TGGGTCCAAC AAATAACGCT TCTCNNNNNN NNNNNNTGCA
 55 451 GATA

SEQ ID NO :13 - Cluster NROA_c1045_-1 : Homologie avec BM363411 :
BS320054B20G01 Subtracted Lewin Cattle Spleen Bos taurus cDNA clone
BS320054B20G01 5', mRNA sequence. 1/2002

```

5      1  GGGGAGGTAT CTGTCACCCA CGCAGAAATG CTTCTGACAG GCGGCANNNN
      51  NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN
      101 NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN NNNNNNNNNN CTTGGCCGAA
10     151 AAGCCTGAGG TAGTCTCGGC GGCAGAGCTT CCGGCCCAGC TTGTAGTAGA
      201 GCGGCCGCGC CACCTACCC

```

15

SEQ ID NO : 14 – Cluster NROA_c69_1 : Homologie avec NM_003127 : Homo sapiens
spectrin, alpha, non-erythrocytic 1 (alpha-fodrin) (SPTAN1), mRNA. 4/2003

```

      1  GAAGCGTTAT TGGAGGAGGC TAACCTAGGA GCAGAGGATC AGTTCACGAA
20     51  GAGCGAGCGG GTGAACTCGA CGTAGTCAAA AGCAGTGGGG AGTTCGCGGC
      101 CCTTGCTGTC CACGTAGGGC TTCATGTGGG AGACGCAGTA GTCGGCTTGT
25     151 TCCCGAGTCA AGTTCTGGTA CAGCTCCTCC TTGGTCACAT AAGGCTTCCC
      201 TTCAGAGCTC ACGGCCCGGA AGGCGCTCTC AATCTCCTCG CTGGACTTGA
      251 CGTTCTCCGT CTCACGGCTG ATCATAAAGG ACATGTACTC TTGCATGGAG
30     301 ACGTGGACGT CCCTGTTAGG ATCCACAGTG TCCAAGATGG ACTCGAACTC
      351 AAGGTCGGGC TCCCCTTCCT CCAACATGGG CAGGTC

```

35

SEQ ID NO : 15 – Cluster NROB_c1_12 : Homologie avec BM431390: 1Duo15D10 Bos
taurus Duodenum #1 library Bos taurus cDNA, mRNA sequence. 1/2002

```

      1  TCTGCAGAAT TCGCCTTTGA GAAGCGTTAT GGGGGCGAGG TGGTAAAGGA
40     51  AGCTTACAAA ACAACTATTC TTTAAAAAAA AACAAAAAAA CAAAAAACA
      101 AAAAACAGCA AAAGCCAACC GGCCCAATTT TGTCTCCAGT TTTCAACGTG
45     151 TGCTTTTCGAG CATTTTCAGCT GTTTCCAGTT ACTTTAGTTT CCAGATATTA
      201 GTCTTCCATT TAGTTTTAAG ACTAAATCTC ACTTTTGGAT AAACACAAGG
      251 AAATATTTTA CTTGCTGAAA AATCACTTTA CTGGATAAAG TTACCTCTTA
50     301 TGCCTTTCAG TTTTCTAATC CAACTTTCTG ACAACCAGTG GTAATTAGGA
      351 AGTTCTAAGT TGCAGTTGTC CCTATGACTT TGGGCTTCCC TGGTGGCTCA
55     401 GCTGGTCAAA AATCTGCCTG CAATGCGGGA GACCTCCACC CCATAACGCT
      451 TCTCAAAGGC GAATTCTGCA GA

```

REVENDEICATIONS

1. Méthode pour détecter la présence ou le risque de développer une encéphalopathie chez un mammifère, comprenant la détermination de la présence, dans un échantillon biologique du mammifère, d'une molécule cible choisie parmi:
- a) un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15 ou un fragment de celles-ci ayant au moins 5, de préférence 6, 7, 8, 9 ou 10 bases consécutives,
 - b) un acide nucléique ayant une séquence complémentaire d'une séquence selon a),
 - c) un analogue fonctionnel d'un acide nucléique selon a) ou b) provenant d'une autre espèce ou un variant naturel, ou
 - d) un polypeptide codé par un acide nucléique selon a) à c),
- la présence d'une telle molécule cible dans l'échantillon étant une indication de la présence ou du risque de développer une encéphalopathie chez ce mammifère.
2. Méthode selon la revendication 1, comprenant la détermination (simultanée) de la présence d'au moins 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou plus des molécules cibles.
3. Méthode selon la revendication 1 ou 2, comprenant la détection de la présence ou de l'absence d'un acide nucléique selon a) à c) par hybridation sélective ou amplification sélective.
4. Méthode selon la revendication 1 ou 2, comprenant la détection de la présence ou de l'absence d'un polypeptide selon d) au moyen d'un anticorps spécifique ou d'un fragment ou dérivé de celui-ci.
5. Méthode selon la revendication 1, pour détecter la présence ou le risque de développer une ESB chez un bovin, comprenant la détermination de la présence, dans un échantillon biologique du bovin, d'une ou plusieurs molécules cibles choisies parmi:
- a) un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15 ou un fragment de celles-ci ayant au moins 5, de préférence 6, 7, 8, 9 ou 10 bases consécutives,

REVENDICATIONS

1. Méthode pour détecter la présence ou le risque de développer une encéphalopathie chez un mammifère, comprenant la détermination de la présence, dans un échantillon biologique du mammifère, d'une molécule cible choisie parmi:

- a) un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15 ou un fragment de celles-ci ayant au moins 5, de préférence 6, 7, 8, 9 ou 10 bases consécutives,
- b) un acide nucléique ayant une séquence complémentaire d'une séquence selon a),
- c) un analogue d'un acide nucléique selon a) ou b) provenant d'une autre espèce ou un variant naturel d'un tel acide nucléique, ou
- d) un polypeptide codé par un acide nucléique selon a) à c),

la présence d'une telle molécule cible dans l'échantillon étant une indication de la présence ou du risque de développer une encéphalopathie chez ce mammifère.

2. Méthode selon la revendication 1, comprenant la détermination (simultanée) de la présence d'au moins 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou plus des molécules cibles.

3. Méthode selon la revendication 1 ou 2, comprenant la détection de la présence ou de l'absence d'un acide nucléique selon a) à c) par hybridation sélective ou amplification sélective.

4. Méthode selon la revendication 1 ou 2, comprenant la détection de la présence ou de l'absence d'un polypeptide selon d) au moyen d'un anticorps spécifique ou d'un fragment ou dérivé de celui-ci.

5. Méthode selon la revendication 1, pour détecter la présence ou le risque de développer une ESB chez un bovin, comprenant la détermination de la présence, dans un échantillon biologique du bovin, d'une ou plusieurs molécules cibles choisies parmi:

- a) un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15 ou un fragment de celles-ci ayant au moins 5, de préférence 6, 7, 8, 9 ou 10 bases consécutives,

- b) un acide nucléique ayant une séquence complémentaire d'une séquence selon a),
- c) un polypeptide codé par un acide nucléique selon a) ou b).

5 6. Méthode pour détecter la présence ou le risque de développer une ESB chez un bovin ou un ovin, comprenant la mise en contact d'un échantillon biologique du bovin ou ovin contenant des acides nucléiques avec un produit comprenant un support sur lequel est immobilisé au moins un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci, et la détermination du profil
10 d'hybridation, le profil indiquant la présence ou le risque de développer une ESB chez le bovin ou ovin.

15 7. Utilisation d'une sonde nucléique spécifique d'un acide nucléique cible tel que défini dans la revendication 1, ladite sonde comprenant de 5 à 400 bases, pour la détection in vitro d'une encéphalopathie chez un sujet.

20 8. Utilisation d'une amorce nucléique permettant l'amplification de tout ou partie d'un acide nucléique cible tel que défini dans la revendication 1, ladite amorce étant simple-brin, d'une longueur comprise entre 5 et 50 bases, pour la détection in vitro d'une encéphalopathie chez un sujet.

25 9. Produit comprenant un support sur lequel est immobilisé au moins un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci ou un analogue fonctionnel de celles-ci.

30 10. Produit comprenant un support sur lequel est immobilisé au moins un polypeptide codé par un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 15 bases consécutives, un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci ou un analogue fonctionnel de celles-ci.

- b) un acide nucléique ayant une séquence complémentaire d'une séquence selon a),
- c) un polypeptide codé par un acide nucléique selon a) ou b).

6. Méthode pour détecter la présence ou le risque de développer une ESB chez un bovin ou un ovin, comprenant la mise en contact d'un échantillon biologique du bovin ou ovin contenant des acides nucléiques avec un produit comprenant un support sur lequel est immobilisé au moins un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci, et la détermination du profil d'hybridation, le profil indiquant la présence ou le risque de développer une ESB chez le bovin ou ovin.

7. Utilisation d'une sonde nucléique spécifique d'un acide nucléique cible tel que défini dans la revendication 1, ladite sonde comprenant de 5 à 400 bases, pour la détection in vitro d'une encéphalopathie chez un sujet.

8. Utilisation d'une amorce nucléique permettant l'amplification de tout ou partie d'un acide nucléique cible tel que défini dans la revendication 1, ladite amorce étant simple-brin, d'une longueur comprise entre 5 et 50 bases, pour la détection in vitro d'une encéphalopathie chez un sujet.

9. Produit comprenant un support sur lequel est immobilisé au moins un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci.

10. Produit comprenant un support sur lequel est immobilisé au moins un polypeptide codé par un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 15 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci.

11. Kit comprenant un compartiment ou conteneur comprenant au moins un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci ou un analogue fonctionnel de celles-ci.

5

12. Utilisation d'un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO : 1-15, ou un fragment de celles-ci comprenant au moins 5 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci, ou un analogue fonctionnel de celles-ci provenant d'une autre espèce ou un variant naturel, pour la détection in vitro

10 d'une encéphalopathie chez un sujet mammifère.

11. Kit comprenant un compartiment ou conteneur comprenant au moins un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 1 à 15, un fragment de celles-ci ayant au moins 5 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci.

12. Utilisation d'un acide nucléique comprenant une séquence choisie parmi SEQ ID NO : 1-15, ou un fragment de celles-ci comprenant au moins 5 bases consécutives, ou un acide nucléique ayant une séquence complémentaire de celles-ci, pour la détection in vitro d'une encéphalopathie chez un sujet mammifère.

1
SEQUENCE LISTING

<110> EXONHIT

<120> Identification de marqueurs diagnostic pour les encéphalopathies
subaiguës spongiformes transmissibles

<130> B0242FR2

<140> FR 03 14486

<141> 2003-12-10

<160> 15

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 191

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<400> 1

gggtgtggagg tgttcaaagg cattgacaat cggactcaga aagtagtcgc cataaaaatc	60
attgacctgg aggaggcaga agatgagatc gaggacattc agcaggaaat cacagtgtctg	120
agtcagtgtg acagtccta cgtaaccaa tattacggat cctacctgaa ggacactaaa	180
ttgtggataa t	191

<210> 2

<211> 244

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

2

<400> 2
 tatctgcaga atttcccctt gagaagcgtt atgggggtgca ggtaagttat tacacaagag 60
 aaagaagttt tcttactaac agcaagatta atggcacaat tcaacaaaaa ctcatatata 120
 ttttactgct taattttacat attattttgg tggaaaaaat agtattcttt attctttcag 180
 tttctttatg caaaaatata cttctacagg gacatcactt agatgttatg caaacctccc 240
 cccc 244

<210> 3

<211> 325

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<400> 3
 gagacatttg gccaaaagag gaatttccag gacaccaaca acatccatta ttccattatt 60
 catttgtttc ctgaagagca aacacttcct tgaaattctt ctcaaattct gcctccagtc 120
 taagcccat ttggccaaaa tcattgaact tgaaagatgc cctgtggttc tgaaagatga 180
 gacgcatgtc ccacacaaac cttccacat tggagtagcc ctgctcattc agcctcttct 240
 tgatcttgtc cagccacatg ggctccttga ggtttttaga agcctctttc atataataat 300
 aatagggaat cctcactata acgct 325

<210> 4

<211> 688

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<400> 4
 aagcgttatg caggtaggcc gacaaggcga agtgggatgc cggagagcgg ccgagttatt 60
 gctccgagga gaccacgttc accggttact atggcgaccg ccccatcccc gatcactatc 120
 agccgttcac cgccgatgag gcgacgtggt tccagctctg ggagacggtg agcgagggca 180
 ctctacgtc gccgcccttc gcgacgattg aggaactggc agcctacctc gccgagtggg 240
 gcgacttctg tgatcacagg cgcgccgtcg agtccatgga cgcgcgcgag attgagcgcc 300
 tcctgacgct gaatgaccgg cactagttca aggtgcyggt gggggcagca gcgcgcctaa 360
 gctttctgca agactggctg ggcgcccagc atgatggtcc gcggcggcga gatcctgacc 420

3

aaccctgggg	acatggtgtc	gtcgtgaccc	tcgcctagct	ctctcacaca	cctaggagga	480
agagatgacc	acccccaaca	ttcgcggcca	cgagaccgaa	gccaaggccc	gcaaggcggc	540
gatgaagtgg	ttcaccttca	cggacggcac	caagcctgtc	gagggcgtcc	acttccacat	600
caagcagaac	cacttcgggc	tctggacctt	ccgggagggc	ccggctccga	agtccgccgg	660
accccgcatc	actcataacg	cttctcaa				688

<210> 5

<211> 373

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<400> 5	
agaagcggtta	ttgctgatac ccgctacatg ttctccaggc ctttcagaaa acatggagtt 60
gttccttttg	ccacatacat gcgaatctac aggaagggtg atattgtaga tatcaaggga 120
atgggtactg	ttcaaaaagg aatgccccac aaatgttacc atggcaaaac tggaagagtc 180
tataatgtca	cccagcatgc tgttggcatc attgtaaaca aacaagttaa gggcaagatt 240
cttgccaaga	gaattaatgt gcgtatcgag catattaagc actctaagag ccgagatagc 300
ttcctgaaac	gtgtgaagga aaatgatcag aaaaagaggg aagccaaaga gaaagggact 360
tggggttaac	acc 373

<210> 6

<211> 235

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<400> 6	
gggcggaggt	caccctgggg atcctccagg gccaggccct ggcacaactc gtctccatca 60
cacagatggg	ccgtcgctg gtcgtggctc tcaggagtca gaccggaaaa agccagccct 120
ggggcaacca	ggagcaccga ggtgatgagc aggacagccc aggaggtcat gttgaggcag 180
ctgaaaggtc	tgtgcaagtc aatcatgaag aaatttctcc gtaccatcac ctccc 235

<210> 7

<211> 285

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<400> 7

cttgtgtagg cagaggttcc agggtcagtg gaggaagcag catcacagcc agatccatgg	60
ttgggggatg gccacgggaa atgacttggt gactgactct gatctcagag tgggacaggc	120
tgacaggcat ctgggaattc cgggcaaggt caggcacgta ttatagaaga gcaaacacca	180
atcccaaaat atcctcagga atcagcgcat gagccccctt tggctcctgt gatggatgat	240
gaggcccagc ccaaggaaga tcagccccag cacaaagcct ccaac	285

<210> 8

<211> 235

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<220>

<221> misc_feature

<222> (44)..(85)

<223> n = a, t, g or c

<400> 8

tctgcagaat tcgcctctga gaagcggttat ccgttggacc caannnnnnn nnnnnnnnnn	60
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnncaaga gaaaagatca gaggtgctg gtgtgacgtt	120
taagtaggaa aaggcctgga aggtgagtc atcaaccgcg gagacaaaag tgggcccggc	180
tccttcaca ggtgccgact gatgctgcc gttcacggtc agtgtgggtc aacac	235

<210> 9

<211> 400

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(57)

<223> n = a, t, c or g

<400> 9

```

aagcggttatt tagataannn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnntac      60
accagagta ttccatagtt tgatggtttt gtctcgggag ccagagacaa tttgccggtt      120
gtcagaagag aaggccacac tcagcacatc tttggtatgg cctacaaatc ggcgagtgg      180
ggtgcccgtt gtgagatccc aaaggcgaag gggtccatcc caggagcctg agagggcaaa      240
ttggccatct gaggaatga ccacatcact aacaaagtgg gagtgacccc gaagagcacg      300
ctgtgggata ccatagtgg tttcatctct ggtcagcttc cacataatga tggctttatc      360
tcgagaggcg gacgatatca tgtccgggaa ctggggagtg      400

```

<210> 10

<211> 397

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<400> 10

```

gggccagggg atgatatgaa tgtcacagga ggagacacct tctgtctttg tttcaaagaa      60
agttgatgtg ccatttgta atatacaaga gaaatattga aaatatattg aaaagagcaa      120
ttttaaatta tttttggctt atgttgcaat atttattttc ttgtattagg aaagattcct      180
ttgtagaaaa aaaatgtatt tttcattaac gcaaaaacct atttctcctt tttgtacatt      240
gtccatgttc gctaccctta acgagcaata gaatgtatgg ctgcctcggg gtggccgggtg      300
cccgcgtgcc ctgcatgatt ctgtggtccc accaccatgt agctcccagt cccatcctgt      360
cctgctcact catggggggt tccagagcct agcccct      397

```

<210> 11

<211> 397

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<400> 11

tggtattgcag gtgactgaga aaaccatcga ggacagtttt taaggggtca ctgagccagg	60
agcaaattgag atcctgagaa agtacttcat tgtggaagag ttagcactaa gcaggaaacc	120
tttccatgct gtgaagaagc tgggacagaa ggttcttcct tgagtgtgac catcttcact	180
tcagctcagg agccctgttg gctgaagtgt agggcgtcct ttctgattcc tgaagtatat	240
ttattagccc cacggcaagg aagaacagac tcagaacgaa gccccgact ccactcatca	300
tcttgctctg agcagagtca gaccgtgccc tccattctac tgtgataggg cttgtctggc	360
tgggggtgctc cacttggcaa gtgtagacct ggcacca	397

<210> 12

<211> 454

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<220>

<221> misc_feature

<222> (435)..(446)

<223> n = a, t, c or g

<400> 12

gctgtccaaa aaggcctccg ttatggaata attcttttta ttatctccga agtactattc	60
tttaccggat ttttctgagc tttctaccac tcaagcctcg cccccacccc tgggggaggc	120
ggctgctgac cccaacagg cattcaccca ctaaaccccc tagaagtccc actgctcaac	180
acctctgtcc tattggcttc cggagtttct attacctgag cccatcatag tttaatagaa	240
ggggaccgaa agcatatatt acaagcccta tttatcacca tcacattagg agtctacttc	300
acactactac aagcctcaga atactatgaa gcacctttta ctatctccga cggagtttac	360
ggctcaactt tttttgtagc cacaggcttc cacggcctcc acgtcatcat tgggtccaac	420
aaataacgct tctcnnnnnn nnnnnntgca gata	454

<210> 13

<211> 219

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<220>

<221> misc_feature

<222> (47)..(140)

<223> n = a, t, c or g

<400> 13
 ggggaggtat ctgtcaccca cgcagaaatg cttctgacag gcggcannnn nnnnnnnnnn 60
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 120
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn cttggccgaa aagcctgagg tagtctcggc ggcagagctt 180
 ccggcccagc ttgtagtaga ggcgccggcc cacctaccc 219

<210> 14

<211> 386

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

<400> 14
 gaagcggtat tggaggaggc taacctagga gcagaggatc agttcacgaa gagcgagcgg 60
 gtgaactcga cgtagtcaaa agcagtgggg agttcgcggc cttgctgtc cacgtagggc 120
 ttcatgtggg agacgcagta gtcggcttgt tcccagagtca agttctggta cagctcctcc 180
 ttggtcacat aaggcttccc ttcagagctc acggcccgga aggcgctctc aatctcctcg 240
 ctggacttga cgttctccgt ctacggctg atcataaagg acatgtactc ttgcatggag 300
 acgtggacgt ccctgttagg atccacagtg tccaagatgg actcgaactc aaggtcgggc 360
 tccccttcct ccaacatggg caggtc 386

<210> 15

<211> 472

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> marqueur diagnostic

8

<400> 15

tctgcagaat tgcgctttga gaagcgttat gggggcgagg tggtaaagga agcttacaaa	60
acaactattc tttaaaaaaa aacaaaaaaa caaaaaaca aaaaacagca aaagccaacc	120
ggcccaattt tgtctccagt tttcaacgtg tgctttcgag catttcagct gtttccagtt	180
actttagttt ccagatatta gtcttcatt tagttttaag actaaatctc acttttggat	240
aaacacaagg aaatatttta cttgctgaaa aatcacttta ctggataaag ttaccttta	300
tgcttttcag ttttctaata caactttctg acaaccagt gtaattagga agttctaagt	360
tgcagttgtc cctatgactt tgggcttccc tgggtggctca gctggtcaaa aatctgcctg	420
caatgcggga gacctccacc ccataacgct tctcaaaggc gaattctgca ga	472

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.. / 1..

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

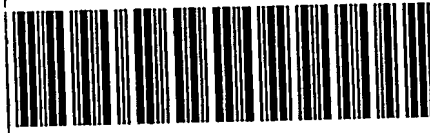
INV

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 4 W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)		B0242FR2
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)		
Identification de marqueurs diagnostic pour les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles		
LE(S) DEMANDEUR(S) :		
EXONHIT THERAPEUTICS SA		
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :		
1	Nom	RESINK
	Prénoms	Annelies
Adresse	Rue	48 rue Bobillot
	Code postal et ville	7 5 0 1 3 Paris
Société d'appartenance (facultatif)		
2	Nom	ROUQUETTE
	Prénoms	Magali
Adresse	Rue	6 rue Rampon
	Code postal et ville	7 5 0 1 1 Paris
Société d'appartenance (facultatif)		
3	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.		
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		
Paris, le 10 Décembre 2003 BECKER Philippe CPI n°97-0800		

PCT/FR2004/002892



This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record.

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ BLACK BORDERS

☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☐ FADED TEXT OR DRAWING

☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.